

Title	ショウジョウバエとマーマセットを対象とした樹状突起Ca ²⁺ シグナルを介する情報処理機構の解析(Abstract_要旨)
Author(s)	寺田, 晋一郎
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2017-03-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k20520
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	寺田 晋一郎
論文題目	ショウジョウバエとマーモセットを対象とした樹状突起 Ca^{2+} シグナルを介する情報処理機構の解析		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>近年、単一の神経細胞が電位依存性カルシウムチャネルなどに代表される能動的膜特性を用いることで高度な演算特性を持つことに注目が集まっている。申請者は、ショウジョウバエ末梢神経系とマーモセットの中樞神経系で、その能動的膜特性による演算特性の解析と、方法論の構築について論じている。</p> <p>第1部ではショウジョウバエ幼虫の一次侵害受容ニューロンClass IV dendritic arborization neuron (Class IV neuron) を対象とし、侵害性刺激に対する情報処理機構をカルシウムイメージング、電気生理学、遺伝学、行動学を用いることで解析している。その結果、申請者はClass IV neuronが侵害性熱刺激に対しカルシウムスパイクを発生し、高頻度発火中に突如として発火の停止期間が生じる、特異的な発火パターンを惹起させることを発見した。遺伝学的解析によりその分子機構を調べたところ、Class IV neuronの熱感受性は2種のTRPAチャネルdTrpA1およびPainlessを介していることが明らかとなった。また、カルシウムスパイクにはL型カルシウムチャネルが必須であり、阻害下では発火停止期が消失した連続的発火パターンが見られた。発火停止期を伴う発火パターンの情報伝達における機能を個体レベルで明らかにするため、Class IV neuron特異的にL型カルシウムチャネルをノックダウンした個体において行動解析を行ったところ、侵害性熱刺激時に見られる回避行動が有意に減弱した。以上の結果をまとめ、申請者は、Class IV neuronは侵害性熱刺激情報を発火頻度だけではなくカルシウムスパイクにより形成される発火パターンへとコードし、下流神経回路へと伝達していると結論づけている。</p> <p>第2部では、能動的膜特性を持つ演算特性の研究を霊長類に拡張する方法論の開発について示している。2光子顕微鏡と蛍光カルシウムセンサーを組み合わせた手法により、生きた個体での長期的な神経活動計測が可能となってきた。しかし、蛍光カルシウムセンサーを神経細胞に発現させるにあたり、齧歯類で使われている方法を霊長類に応用しても蛍光カルシウムセンサーの発現レベルが低く、顕微鏡での観察は困難であった。そこで申請者は、テトラサイクリン発現誘導システム (TET-on/offシステム) を神経細胞への遺伝子発現に用い、蛍光カルシウムセンサーの発現を増幅することでこの問題を解決した。新世界ザル的一种であるコモンマーモセット (Callithrix jacchus) に対しこの技術を適用することで、マーモセットの脳皮質体性感覚野に蛍光カルシウムセンサーの一種であるGCaMP6fを発現させ、数百個の神経細胞の活動を同時に計測することに成功した。また、同一の神経細胞の長期間 (100日以上) にわたる継続的観察も可能とした。さらに、神経細胞の細胞体だけでなく、樹状突起と軸索からも体性感覚応答を計測することに成功した。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

近年、樹状突起が能動的に情報処理に寄与する可能性について実験と理論の両面から研究され、「樹状突起演算」と呼ばれ注目を集めている。しかし、それら知見は中枢神経系、中でも齧歯類に偏っており、生物が持つ多様な神経系でそれがどこまで拡張可能で、またどのような差異が存在するのか明らかとなっていない点が多い。

申請者はまず、Class IV neuronと呼ばれるショウジョウバエ幼虫一次痛覚ニューロンを対象とした研究を実施した。このニューロンは高熱と高強度の短波長光という、個体を傷害する刺激を受容することが知られている。また、受容された刺激は、高熱時には全身を側方に回転させる回転逃避行動を、高強度光には頭を刺激から遠ざける回頭逃避行動をそれぞれ惹起させるが、どの様にしてClass IV neuronが異なった刺激を異なった行動応答へと結びつけているかは不明であった。そこで申請者は、それぞれの刺激時の発火パターンについて計測を行った。その結果、Class IV neuronは侵害性熱刺激に対し高頻度発火中に突如として発火の停止期間が生じる「Burst and pause発火」を引き起こすのに対し、高強度光に対しては低発火頻度の連続発火応答を示す事を明らかにした。また、「Burst and pause発火」の分子機構について遺伝学的、薬理的解析を用い調べており、この発火がL型電位依存性カルシウムチャネル(L-VDCC)を介した樹状突起内カルシウムスパイクに起因して生成されている事を見出した。さらに申請者は行動実験を行い、L-VDCCを阻害し「Burst and pause発火」が消失した個体では、回転逃避行動が起こりにくくなっている事を示し、「Burst and pause発火」が実際に下流への情報伝達に使われている事を明らかにした。これら結果から、一次痛覚ニューロンでも樹状突起の能動的性質が利用されている事を初めて明らかにした。

申請者は次に、霊長類にて樹状突起の能動的な情報処理がどの様に使われているのかを明らかにするための技術開発を行なった。齧歯類においては2光子顕微鏡とGCaMPなどに代表される蛍光カルシウムセンサーを組み合わせることで樹状突起活動を計測する手法が知られている。しかし、それを霊長類へと適用するにあたり、十分な蛍光カルシウムセンサーの発現が得られない問題があった。申請者は、テトラサイクリン発現誘導システムを用い発現を増幅することでこの問題を解決した。マーモセットに対しこの技術を適用し、大脳皮質体性感覚野に蛍光カルシウムセンサーの一種であるGCaMP6fの強力な発現を実現した。その結果、樹状突起での体性感覚刺激に対する活動応答の計測に成功し、霊長類脳で樹状突起が情報処理において能動的になす機能を明らかにする基盤を作製した。

以上の発表を踏まえ、Class IV neuronの「Burst and pause発火」に伴うカルシウムスパイクの発生部位と生成のメカニズム、「発火率上昇」や「発火細胞総数」が回転逃避行動を促進する信号として寄与している可能性、さらにはマーモセットを用いて解明し得る問題などについて議論した。

本論文の全編を通して、生命科学に関する優れた研究能力と高度で幅広い学識が示されている。そして、先行研究では示されていなかった、生命科学の理解・発展に寄与する発見と概念が含まれており、論理的かつ一貫性をもって記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

平成29年2月6日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日